货号：BP-21-50

dsRNA 合成试剂盒

2026V01

产品概述

本试剂盒利用了 T7 RNA 聚合酶可以识别带有 T7 启动子的双链 DNA 模板，可以对 T7 启动子下游的 DNA 序列进行转录，高效合成单链 RNA，体外转录反应后退火可以合成 dsRNA。一般情况下，使用本试剂盒进行单个反应可以合成 15-60μg 的 dsRNA，纯度可达到 85%以上。

试剂盒组分

组分	货号	体积
ATP Solution（100mM）	BP-AS-01	100μL
GTP Solution（100mM）	BP-AS-02	100μL
CTP Solution（100mM）	BP-AS-03	100μL
UTP Solution（100mM）	BP-AS-04	100μL
N1-Me-pUTP Solution（100mM）	BP-AS-07	100μL
T7 RNA 聚合酶	BP-E01	100μL
RNase Inhibitor（40U/μL）	BP-E02	100μL
无机焦磷酸酶（0.1U/μL）	BP-E03	100μL
10 × Transcription Buffer	BP-AS-08	100μL
10×Enhancer A1	BP-AS-109	100μL
10×Enhancer A2	BP-AS-110	200μL
RNase-free ddH_2O	BP-AS-11	1mL
DNase I（2U/μL）	BP-E04	100μL
5×Reaction Buffer	BP-AS-111	1mL
S Reagent	BP-AS-112	100μL
Precipitation Reagent	BP-AS-10	1mL

保存条件

-20±5℃存储。

自备材料

耗材：无核酸酶 PCR 管、无核酸酶移液枪头、RNA 纯化回收磁珠（如有必要）等。

模板：上下游均带 T7 启动子的 DNA 模板。

试剂：无水乙醇。

实验流程

1. 体外 RNA 的合成

采用 T7 RNA 聚合酶进行体外合成，合成条件为 0.5μg 线性 DNA 模板，37℃反应 3 小时转录产生 RNA。根据所需 dsRNA 的量，设置多个反应或增加反应体系，即可大规模合成 RNA。具体过程如下：

（1）取出 T7 RNA 聚合酶、RNase Inhibitor 和无机焦磷酸酶立即放置在冰上；取出 ATP Solution、GTP Solution、 CTP Solution、UTP Solution 或 N1-Me-pUTP Solution 室温下解冻之后立即转移至冰上；涡旋 10×Transcription Buffer、10×Enhancer A1，直到完全溶解，一旦解冻，放置在室温下，并在室温条件下配制转录反应，RNA 体外合成体系以 20μL 计，包括以下组分：

试剂	体积
10 × Transcription Buffer	2μL
10×Enhancer A1	2μL
ATP Solution（100mM）	2μL
CTP Solution（100mM）	2μL
GTP Solution（100mM）	2μL
UTP Solution（100mM）或 N1-Me-pUTP Solution	2μL
无机焦磷酸酶（0.1U/μL）	1μL
RNase Inhibitor（40U/μL）	1μL
T7 RNA 聚合酶	2μL
Template DNA	0.5μg
RNase-free ddH_2O	Up to 20μL

（2）混匀：轻轻拨动试管或用移液枪将混合物上下吹打，瞬离收集反应混合物至试管底部。

（3）转录：使用带热盖的设备，37°C至少反应 3h。

（4）消化模板 DNA：在转录完成后的体系中加入 2μL 的 DNase I，反应条件为 37°C孵育 30min。

2. dsRNA 的合成

向体外合成的 IVT 产物体系中加入 2μL 的 10×Enhancer A2 混匀，75°C反应 5min 后，关闭加热设备（设备请勿开盖），使其自然降至室温，约 3-4h，即可得到退火产物。

3. dsRNA 的富集

由于 S Reagent 消化能力比较强，可将转录产物和退火产物通过琼脂糖凝胶电泳判断是否有 dsRNA 合成，以免在此步骤中进行消化时将目的产物破坏。S Reagent 通过消化残留的 ssRNA 来富集 dsRNA，反应体系可参考下表：

试剂	体积
退火产物	24μL
S Reagent	1-4μL
5×Reaction Buffer	10μL
RNase-free ddH_2O	Up to 50μL

37°C反应约 15-30 min。

4. dsRNA 的纯化：

本试剂盒提供氯化锂沉淀法纯化 dsRNA，具体过程如下：

（1）向反应混合物中，加入等体积 RNase free H_2O 和 Precipitation Reagent。

（2）混合均匀后，置于-20°C放置 1 h，以 15000rpm，4°C离心 15min，收集沉淀。

（3）小心地移除上清，用 500μL 70%乙醇清洗沉淀，4°C，15000rpm 离心 15min。

（4）小心地去除 70%的乙醇，根据下游实验的需要，将 dsRNA 重悬在对应的溶液或缓冲液中。

注意事项

1. 体系的配制尽可能在无酶环境中配制，可使用清洁后的洁净工作台进行此操作，合成的 dsRNA 也尽可能避免在洁净工作台以外的区域开盖，以避免 RNase 的污染。

2. 转录体系配制时请严格按照说明书中的加样顺序进行加样，10×Transcription Buffer 需要在恢复至室温后使用，DNA 在

低温下容易与亚精胺发生共沉淀，影响转录产量，体系配制过程中，DNA 模板应当是最后加入的组分。

3. 随着底物 dsRNA 的增加，可适当增加 S Reagent 投入量或延长反应时间。

4. RNA 样本中 EDTA 的存在可能会影响 S Reagent 的活性。

5. 纯化的 dsRNA 经沉淀回收得到目的产物一般呈现透明状，质地较松散，在回收过程中吸取液体时应注意避免将底部液体完全吸净，经乙醇清洗后再小心将底部液体吸干。

6. 试剂盒种各组分使用前应混匀，避免反复冻融。